

光環境に応じた表現型多型の分子・神経制御の解明

Investigating the Molecular and Neural Mechanisms of Light-Responsive Polyphenism

(日本発生生物学会推薦)

代表研究者 広島大学

奥村美紗子

Hiroshima University

Misako OKUMURA

Environmental factors during development can influence phenotypic outcomes in animals. In this study, we investigated how light exposure during development affects morphological traits in the nematode *Pristionchus pacificus*, which exhibits mouth-form plasticity. We found that *P. pacificus* displays light avoidance behavior, particularly in response to short-wavelength light. Through a forward genetic screen, we identified genes in the cGMP signaling pathway, including guanylate cyclases and CNG channels, as essential for this response. Reporter analysis and neuron silencing experiments revealed that amphid sensory neurons mediate light detection. Furthermore, we demonstrated that developmental light exposure increases the proportion of the eurystomatous (wide-mouthed) form in adults. This shift was dependent on known mouth-form regulators such as *eud-1* and was also influenced by mutations in cGMP-related genes. Our findings reveal that light acts as a developmental cue, affecting both sensory behavior and morphological differentiation in *P. pacificus*, and highlight the broader role of light in shaping phenotypic outcomes beyond classical photoreception.

研究目的

「遺伝か環境か」という問いは古くから議論されており、個体の表現型の決定には遺伝的背景だけでなく、成長過程における環境要因も大きく影響を及ぼすことが知られている。同一の遺伝子型であっても、異なる環境下で育つことで異なる形質を示すことを「表現型可塑性」という。特にヒトでは、胎児期や乳幼児期の環境が将来の疾病リスクや健康状態に影響することが報告されている。

本研究では、発生段階での環境因子として「光環境」に着目した。動物にとって光は、概日時計や行動選択に重要な情報源であるが、発生過程における光刺激が長期的な形態形成に与える影響については未解明の部分が多い。

この課題を解明するために、本研究では「表現型多型」を示す線虫 *Pristionchus pacificus* (以下、*P. pacificus*) をモデルとした。表現型多型とは、同一の遺伝子型から環境条件に応じて明確に異なる形態を取る現象であり、例としては昆虫のカースト分化や温度による性決定などが挙げられる。*P. pacificus* は全長 1 mm ほどの線虫で、短い生活環、遺伝学的解析に適した

ツールが揃っており、進化生物学の研究対象として活用してきた (*Nat Genet.* 40: 1193–1198, 2008; *Genetics.* 47: 300–304, 2009; *Dev Genes Evol.* 225: 55–62, 2015)。成虫は 2 種類の異なる口腔構造（「幅広型」と「狭小型」）を示す。この口腔形態は幼虫期の環境要因によって決定される (*Nature.* 466: 494–497, 2010) (図 1)。

我々は、これまでの研究から、幼虫期の光環境が、*P. pacificus* の口腔形態決定に重要であることを見出している（未公表データ）。この知見をもとに、本研究では「光環境に応じた表現型多型の分子・神経制御の解明」を目的とした。

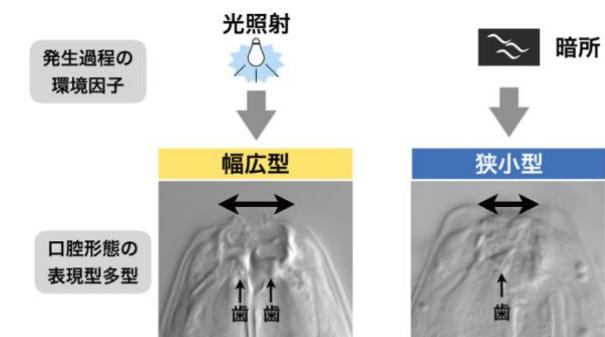


Figure 1 *P. pacificus* shows mouth form dimorphism

研究経過

上記の目的のために、最初に線虫の光受容機構の解明を行った。動物では光受容体としてロドプシン(Gタンパク質共役型受容体(GPCR)であるオプシンと発色団レチナールの複合体)やクリプトクロムが知られている。線虫では眼に相当する器官が存在せず、ゲノム中にオプシンやクリプトクロムを持たないが、光に対して忌避行動を示す(*Plos Biol.* 6. e198. 2008; *Nat Neurosci.* 11. 916–922. 2008; *Int J Biol.* 9. 51–55. 2017)。近年、線虫における光感知メカニズムを解明するために、線虫*Caenorhabditis elegans*を用いた順遺伝学的スクリーニングが行われ、動物における第3の光受容体としてLITE-1が同定された(*Plos Biol.* 6. e198. 2008; *Cell.* 167. 1252–1263. 2016)。しかし、既知の約3万種の線虫のうち、LITE-1は*C. elegans*の近縁種(約50種)でしか確認されていない。そのため*P. pacificus*は異なる光受容機構をもつと考えられる。本研究では、まず*P. pacificus*がどのように光を感じているのか、その分子メカニズムの解明を目指した。

*P. pacificus*が光に対して行動的な応答を示すかどうかを調べるために、成虫に紫外線、青色光、緑色光などを照射し、その行動を観察した。その結果、短波長の光(紫外線、青色光)に対して明確な忌避行動(後退)が見られ、波長特異的な光感知能力を持つことが明らかとなった(図2)。

この光忌避行動の分子基盤を明らかにするため、順遺伝学的スクリーニングを実施し、光感受性が消失した変異体を同定した(図3、図4A)。これらの変異体

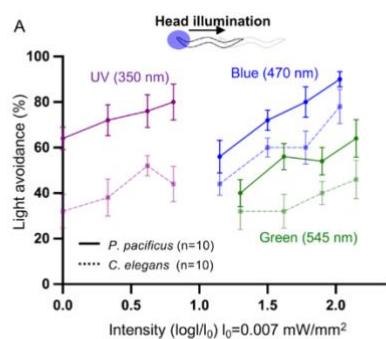


Figure 2 *P. pacificus* avoids short-wavelength light

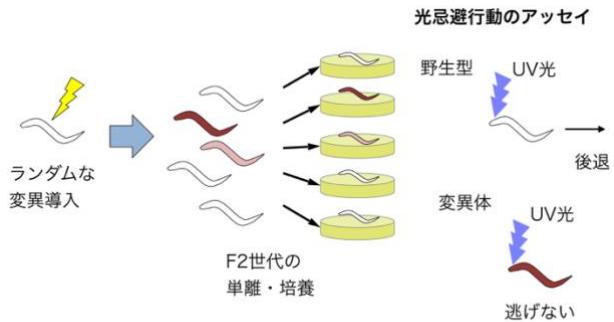
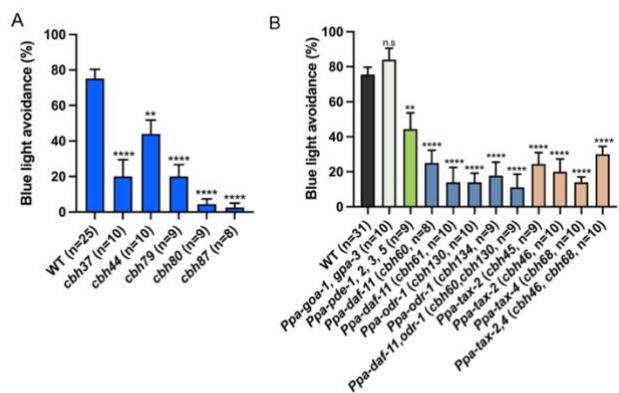


Figure 3 Strategy of a forward genetic screen



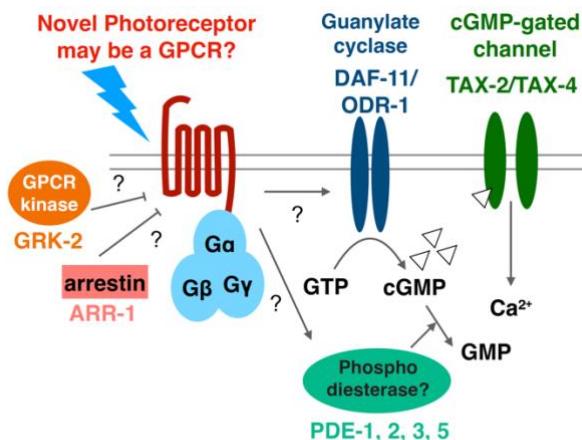


Figure 5 A model of phototransduction pathway in *P. pacificus*

の結果、これらの遺伝子は共通して感覚神経である amphid neuron(AM1, 3, 4, 5, 8)に発現していることを明らかにした。

これらの感覚神経が光忌避行動に必要であるか明らかにするために、*Ppa-daf-11* プロモーターを用いて tetanus toxin (Tetx)の発現系統を確立した。Tetx は神経伝達物質の放出を抑制することが可能である。Tetx 発現系統では、光忌避行動が優位に減少したことから、AM1, 3, 4, 5, 8 細胞が光忌避行動に重要であることを明らかにした。

以上の成果は、*PLoS Genetics*, 20, e1011320 (2024)として発表することができた。

さらに *P. pacificus* の GPCR キナーゼ変異体では光忌避行動が減少することから、*P. pacificus* の光受容体は GPCR である可能性が考えられる。そのため G タンパク質である G α 、G β 、G γ の変異体を作出した。これらの変異体では光忌避行動に異常はみられなかつたが、光順応に G β 、G γ が関わることを明らかにした。以上の成果は、*Zoological Science*, 42, 60-67 (2025)として発表した。

次に、発生段階における光環境が、成虫の口腔形態に与える影響を検証した。幼虫期に青色光あるいは白色光を照射すると、成虫で「幅広型」の割合が有意に增加了。一方、赤色光ではそのような変化はみられなかつた(図 6)。照射時間や時期を変化させた実験からは、特に幼虫期 3 日目以降の照射が効果的であり、また長期間の照射(幼虫期全体)が最も顕著な形態変化を誘導することが分かった。

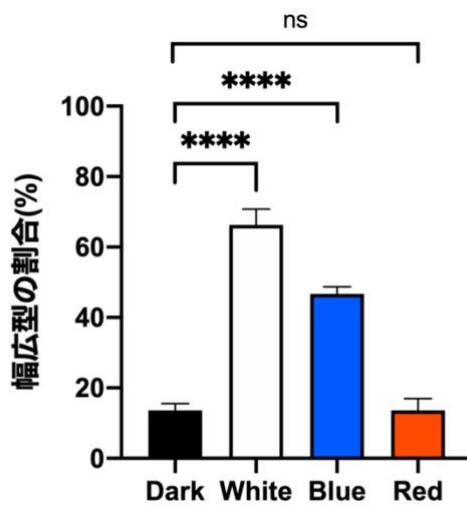


Figure 6 Developmental light exposure increased the Eu form

口腔形態の決定に関与する既知の遺伝子についても解析を行った。スイッチ遺伝子である *Ppa-eud-1* 変異体では光照射による幅広型の増加は観察されず、この遺伝子が光依存的な幅広型の増加に必須であると示唆された。

さらに、光応答に関わる cGMP 経路の構成因子変異体を解析したところ、cGMP 合成酵素や CNG チャネルの変異体では、光条件に関わらず高頻度で幅広型を示した。これに対し、cGMP を分解するホスホジエステラーゼの変異体では狭小型が増加しており、cGMP 経路が光による口腔形態の表現型多型決定において重要な役割を果たしている可能性が示された(図 7)。

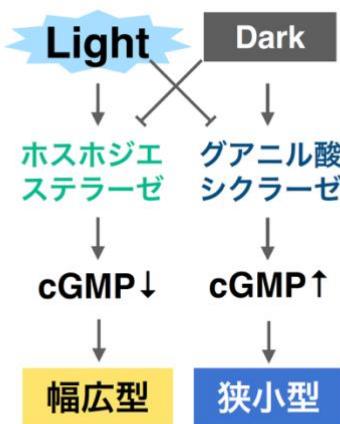


Figure 7 cGMP pathway regulates mouth form dimorphism

考察

本研究では、cGMP 経路が光忌避行動および口腔形態の多型決定に関わることを明らかにした。線虫 *P. pacificus* における光伝達経路は、モデル線虫である *C. elegans* と保存されている部分と、そうでない部分があることがわかり、動物における光感知メカニズムの多様性を示唆している。今後、*P. pacificus* における光受容体を同定し、その保存性を確認する。様々な種において同定する光受容体が保存されていた場合、光による新たな生理機能の制御の解明につながると期待する。さらに、本研究で得られた知見は、哺乳類など他の動物種における「発生期の光環境と形態形成の関連性」の解明にもつながる可能性があり、発生環境の最適化や医療応用に向けた新たな基盤を提供するものと期待される。

研究の発表

口頭発表

1. Okumura M, “Light and oxidative stress influence the mouth form dimorphism in the nematode *Pristionchus pacificus*”, 第46回日本分子生物学会, 兵庫県, 神戸市, 2023年12月8日
2. Okumura M, “Light influences mouth form polyphenism through the cGMP pathway in the nematode *Pristionchus pacificus*”, 12th Tokyo Tech International Symposium on Life Science and Technology “Photon explores new frontiers of biology, chemistry and medical therapy”, 東京工業大学

2024年1月24日

3. Hiraga H, Onodera A, Nakayama K, Kai C, Chihara T, Okumura M, “Light-induced oxidative stress affects mouth-form polyphenism in the nematode *Pristionchus pacificus*.” 線虫研究の未来を創る会 2024, オンライン, 2024年8月27日-28日
4. 奥村美紗子, “ゲノム編集で迫る“線虫を食べる線虫”の行動進化メカニズム”, 広島大学卓越大学院プログラム先端科学セミナー“ゲノム編集”で未来社会を拓く, オンライン, 2024年12月5日
5. 黄佳銘、真鍋礼、中山賢一、千原崇裕、奥村美紗子, “線虫 *Pristionchus pacificus* における光受容機構の順遺伝学的解析”, 関西中部地区線虫勉強会 2025, 大阪, 2025年1月12日
6. 遅舒然、中山賢一、千原崇裕、奥村美紗子, “Reverse genetic screening for photoreceptors in the nematode *Pristionchus pacificus*”, 関西中部地区線虫勉強会 2025, 大阪, 2025年1月12日

誌上発表

1. Nakayama, K., Hiraga, H., Manabe, A., Chihara, T., Okumura, M., “cGMP-dependent pathway and a GPCR kinase are required for photoresponse in the nematode *Pristionchus pacificus*”, *PLoS Genetics*, 20, e1011320 (2024)
2. Manabe, A., Ko, K., Nakayama, K., Chihara, T., Okumura, M., “The Nematode *Pristionchus pacificus* Requires the G β and G γ Proteins for Light Adaptation But Not For Light Avoidance”, *Zoological Science*, 42, 60-67 (2025)